

• 临床检验研究论著 •

丙型肝炎病毒基因分型与治疗效果关系的研究*

乔 斌,汪 明,袁乐永,李 艳[△]

(武汉大学人民医院检验科,湖北武汉 430060)

摘 要:目的 分析丙型肝炎病毒(HCV)基因型与利巴韦林联合聚乙二醇干扰素 α -2a 治疗效果的关系,为临床抗 HCV 治疗提供依据。方法 选择 179 例慢性丙型肝炎初治患者进行利巴韦林联合聚乙二醇干扰素 α -2a 的标准方案进行治疗,采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)进行 HCV-RNA 定量检测,采用基因测序检测进行 HCV 基因分型。治疗后评价持续病毒学应答(SVR)。结果 179 例丙型肝炎患者中,HCV 1b 型占 79.3%,HCV 2a 型占 8.4%,HCV 3b 型占 5.0%,HCV 6a 型占 2.2%,HCV 1b、2a 混合型占 1.1%,其他型占 4.0%。HCV 2a 型患者获得 SVR 率明显高于 HCV 1b 型,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.956, P = 0.026$)。结论 该院 HCV 基因型主要为 HCV 1b 和 HCV 2a 型,HCV 1b 型患者对标准治疗方案的疗效较 2a 型差。

关键词:肝炎病毒,丙型; 基因型; 利巴韦林; 干扰素; 治疗结果

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)21-2823-02

A study on relationship between genotyping of hepatitis C virus and therapeutic effects*

Qiao Bin, Wang Ming, Yuan Leyong, Li Yan[△]

(People's Hospital of Wuhan University/Hubei Provincial People's Hospital, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: Objective To analyze the relationship between genotypes of hepatitis C virus(HCV) and the therapeutic effects of ribavirin combined with pegylated interferon α -2a, and to provide basis for anti-HCV therapy. **Methods** 179 untreated patients with chronic hepatitis C were enrolled and subjected to standard regimen of ribavirin combined with pegylated interferon α -2a. Real-time quantitative polymerase chain reaction(PCR) was performed to conduct HCV-RNA quantitative detection and the gene sequencing was employed to perform HCV genotyping. Sustained virological response(SVR) was evaluated after treatment. **Results** Among 179 patients with hepatitis C, there are 79.3% of HCV 1b type, 8.4% of HCV 2a type, 5.0% of HCV 3b type, 2.2% of HCV 6a type, 1.1% of HCV 1b and 2a mixed type and 4.0% of other types. SVR rate of patients with HCV 2a type was markedly higher than that of patients with HCV 1b type, with statistically significant difference($\chi^2 = 4.956, P = 0.026$). **Conclusion** The major HCV genotypes in this hospital are HCV 1b and HCV 2a, and the therapeutic effects of patients with HCV 1b type is worse than that of patients with HCV 2a type.

Key words: hepatitis C virus; genotype; ribavirin; interferons; treatment outcome

丙型肝炎是一种呈全球性分布的传染性疾病,2012 年 WHO 统计大约有 1.5 亿人感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV),其中 75%~85% 的丙型肝炎患者发展为慢性感染。HCV 是肝脏纤维化、肝移植和肝癌的主要病因,每年有超过 35 万人死于 HCV 感染相关的肝脏疾病。目前,还没有疫苗能预防 HCV 感染,但是,及时有效的抗病毒治疗可以治愈 HCV 感染。研究发现,不同基因型的 HCV 对利巴韦林联合聚乙二醇干扰素 α -2a 的标准治疗方案反应不同^[1-3]。本文就国内 HCV 基因型与利巴韦林联合聚乙二醇干扰素 α -2a 治疗效果之间的关系进行研究,为临床抗 HCV 治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011~2012 年本院收治的 179 例慢性丙型肝炎初治患者,其中,男 97 例,女 82 例;年龄 17~79 岁。均符合 2004 年《丙型肝炎防治指南》的诊断标准^[4],HCV-RNA 阳性,抗-HCV 抗体阳性[酶免疫分析(enzyme immunoassay, EIA)法检测]。

1.2 检测方法 HCV-RNA 定量使用德国 Roche LightCycler480 实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪及配套试剂检测,HCV 基因分型采用美国应用生

物系统公司 ABI3130XL 基因测序仪检测。测序结果与参考序列 AF009606、AF271632 和 AF139594 等[美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI) GenBank]进行比对分析,确定 HCV 基因型。

1.3 治疗方案 慢性丙型肝炎的治疗按 2004 年《丙型肝炎防治指南》中的方案进行。(1)对基因型为 1 型的丙型肝炎患者,采用 180 μ g 聚乙二醇干扰素 α -2a 皮下注射,每周 1 次,联合口服利巴韦林 1 000 mg/d。治疗 12 周时检测血清 HCV-RNA 含量,如血清 HCV-RNA 检测阴性,继续治疗至 48 周;如血清 HCV-RNA 下降幅度小于 2 个对数级,则考虑停药;如血清 HCV-RNA 未转阴,但下降大于 2 个对数级,则继续治疗至 24 周。治疗 24 周时,如血清 HCV-RNA 转阴,可继续治疗至 48 周;如血清 HCV-RNA 仍未转阴,则停药观察。(2)对基因型为非 1 型的丙型肝炎患者,采用 180 μ g 聚乙二醇干扰素 α -2a 皮下注射,每周 1 次,联合口服利巴韦林 800 mg/d,治疗 24 周。所有患者治疗结束后均随访 24 周,进行血清 HCV-RNA 检测。

1.4 疗效评价 治疗终止 24 周后,检测 HCV-RNA,评价持续病毒学应答(sustained virological response, SVR)。

* 基金项目:国家重点临床专科建设资助项目(财社[2010]305 号)。 作者简介:乔斌(1988~),男,硕士,主要从事感染性疾病的诊治工作。 [△] 通讯作者,E-mail:liyan@whu.edu.cn。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,率比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

共对 179 例丙型肝炎患者的 HCV 进行基因分型,其中, HCV 1b 型占 79.3%, HCV 2a 型占 8.4%, HCV 3b 型占 5.0%, HCV 6a 型占 2.2%, HCV 1b、2a 混合型占 1.1%, 其他型占 4.0%。HCV 1b 型和 2a 型共 157 例患者,在应用标准治疗方案治疗 24 周后进行随访,其余患者因例数较少,无法进行统计分析,未进行随访。142 例 HCV 1b 型患者中,81 例获得 SVR,占 57.0%;61 例未获得 SVR,占 43.0%。15 例 HCV 2a 型患者中,13 例获得 SVR,占 86.7%;2 例未获得 SVR,占 13.3%。HCV 2a 型患者获得 SVR 率明显高于 HCV 1b 型,差异有统计学意义($\chi^2=4.956, P=0.026$)。

3 讨 论

HCV 属于黄病毒科 HCV 属,是一种 RNA 病毒。该病毒基因组是一条单股正链 RNA,由大约 9 600 个核苷酸组成,可编码一个大约由 3 000 个氨基酸组成的多聚蛋白前体。该蛋白前体可由病毒和宿主的蛋白酶剪接形成 3 个结构蛋白(核心蛋白、E1、E2)和 7 个非结构蛋白(P7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B)^[5]。由于 HCV 自身的高复制能力(每日产生的病毒颗粒超过 1×10^{12} 个)、HCV 依赖 RNA 的 RNA 聚合酶缺乏校正活性和机体的免疫压力^[6-7],导致病毒基因组的碱基改变,当变异程度超过 30% 时,形成不同的基因型;变异程度超过 25% 时,形成不同的基因亚型。目前,国际上通用 Simmonds 基因分型命名系统,将 HCV 分为 6 个主要基因型,68 个基因亚型^[8-9]。中国 HCV 基因型以 1b、2a 型常见,其中以 1b 型为主^[1]。不同的 HCV 基因型对干扰素联合利巴韦林的标准治疗方案反应不同,Fried 等^[1]、Manns 等^[2]、Hadziyannis 等^[3]的研究中,基因型为 1 型的丙型肝炎患者的 SVR 率为 40%~50%;而基因型为 2、3 型的丙型肝炎患者,其 SVR 率超过 80%。本研究中,HCV 1b 型 SVR 率为 57.0%,HCV 2a 型 SVR 率为 86.7%,二者差异有统计学意义,与 Fried 等^[1]的研究基本相符。因此,中华医学会肝病学会和美国肝脏疾病研究协会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)在丙型肝炎防治指南中均指出,丙型肝炎治疗前需要对 HCV 进行基因分型,从而针对不同的基因型制定合理的治疗方案,并对治疗效果进行预测^[4,10]。

研究发现,1 型丙型肝炎患者的肝功能损害较非 1 型严重,1 型患者 HCV-RNA 含量、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)均高于非 1 型患者^[11-12],这可能与治疗效果较差相关,而机体自身的免疫状态也与治疗效果有密切关系,研究发现,IL-28B 基因上 rs12979860、rs8099917 两个位点处的基因多态性与 HCV 的自发清除和治疗效果之间有密切的关系^[13-15]。本研究由于条件所限,未对 rs12979860、rs8099917 基因状态进行检测。

不同基因型 HCV 的生物学活性不同,导致其对治疗的存在差异,同时,由于机体免疫状态的复杂性,也会影响机体对治疗的应答。因此,丙型肝炎患者治疗前,应对其 HCV 进行基因分型,同时评估机体的免疫状态,不仅可为患者制定合适的治疗方案提供依据,还可以预测治疗效果。

参考文献

- [1] Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection[J]. N Engl J Med, 2002, 347(13): 975-982.
- [2] Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial[J]. Lancet, 2001, 358(9286): 958-965.
- [3] Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon- α -2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose[J]. Ann Intern Med, 2004, 140(5): 346-355.
- [4] 中华医学会肝病学会, 中华医学会传染病与寄生虫病学会. 丙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(4): 194-198.
- [5] Krekuleová L, Rehák V, Riley LW. Structure and functions of hepatitis C virus proteins; 15 years after[J]. Folia Microbiol (Praha), 2006, 51(6): 665-680.
- [6] Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon- α therapy[J]. Science, 1998, 282(5386): 103-107.
- [7] Ogata N, Alter HJ, Miller RH, et al. Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991, 88(8): 3392-3396.
- [8] Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region[J]. J Gen Virol, 1993, 74 (Pt 11): 2391-2399.
- [9] Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes[J]. Hepatology, 2005, 42(4): 962-973.
- [10] Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, et al. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. Hepatology, 2011, 54(4): 1433-1444.
- [11] Yamada G, Takahashi M, Tsuji T, et al. Quantitative HCV RNA and effect of interferon therapy in chronic hepatitis C[J]. Dig Dis Sci, 1992, 37(12): 1926-1927.
- [12] Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, et al. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon- α therapy: relationship to genotypes of hepatitis C virus[J]. Hepatology, 1992, 16(2): 293-299.
- [13] Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance[J]. Nature, 2009, 461(7262): 399-401.
- [14] Guo X, Zhao Z, Xie J, et al. Prediction of response to pegylated-interferon- α and ribavirin therapy in Chinese patients infected with different hepatitis C virus genotype[J]. Virol J, 2012, 9: 123-124.
- [15] Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C[J]. Nat Genet, 2009, 41 (10): 1105-1109.

(收稿日期: 2013-06-07)